

平成 16 年度厚生労働科学研究費（循環器疾患等総合研究事業）
日本人の食事摂取基準（栄養所要量）の策定に関する研究
主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

Ⅱ．主任研究者の報告書

12. ラットにおける高タンパク質食投与時のナイアシンの必要性

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

ナイアシンはトリプトファンから生合成されているため、トリプトファンを十分量摂取していれば、ナイアシンそのものを必須としないといわれている。今回、我々は、ナイアシンを含まない 20%, 40%, 60%カゼイン食で育てた幼若ラットはナイアシンそのものを必要としなかったが、70%カゼイン食を与えた時には、ナイアシンそのものを必要とすることを見いだした。これは、トリプトファン-ナイアシン転換経路において重要な役割を果たす肝 aminocarboxymuconate-semialdehyde decarboxylase 活性がカゼインレベルに応じて高くなる現象に起因しており、結果的に、20%, 40%, 60%カゼイン食投与時のトリプトファン-ナイアシン転換率に比して、70%カゼイン食では顕著に低い値となった。この転換率の低下により、トリプトファン摂取量が多いのにもかかわらず、必要量のナイアシンを供給することができずナイアシンそのものを要求するようになったものと思われた。

A. 目的

500 以上の酵素はナイアシンを補酵素として必要とするため、生体内での補酵素供給の制御機構を決定することは重要である。ヒトを含む哺乳動物は必須アミノ酸であるトリプトファン(Trp)からナイアシンを合成することができる。したがって、我々のグループを含む多くの栄養学者たちは、Trp が適当量摂取される時にはナイアシンそのものを必要としないと主張する。事実、若年ラットに 20%カゼイン食のような適当量のたんぱく質を含むナイアシン欠の飼料を与えた場合、それらの成長には何の影響もない¹⁾。しかし、我々は 70%カゼイン食をラットに摂取させた時、ラットの最大の成長にナイアシンを必要としたのを発見したので報告する。

B. 実験方法

1. 試薬

ビタミン欠ミルクカゼイン、ショ糖、L-メチオニン、ニコチンアミド(Nam)およびL-トリプトファン(Trp)は和光純薬工業株式会社から購入した。キヌレニン硫酸塩、キヌレニン酸(KA)およびN¹-methylnicotinamide (MNA) 塩化物は東京化成工業株式会社より購入した。N¹-methyl - 2 - pyridine - 5 - carboxamide (2-Py) と N¹-methyl - 4 - pyridine - 3 - carboxamide (4-Py) は Pullman と Colowick²⁾ と柴田らの方法によりそれぞれ合成した³⁾。コーン油は味の素株式会社から購入した。ミネラル (AIN-93M-MX) とビタミン (AIN-93-VM) ミックスはオリエンタル酵母工業株式会社から購入した。他の全ての試薬類は入手可能な最も高純度のものを使

用した。

2. 動物

実験動物の管理と取り扱いは滋賀県立大学実験動物倫理委員会のガイドラインに従った。

3. 実験内容

①実験 1 (ビタミン B₆ を含む 70%カゼイン食のニコチン酸 (NiA) の有無)

Wistar 系雄ラット (体重 60g 前後の 4 週齢) を日本クレアより購入し、直ちに個別に代謝ケージ (CT-10; 日本クレア) に入れた。これらの環境に順応させるために、初めの 7 日間は完全な 20%カゼイン食¹⁾と水を自由に摂取させた。その後、2 つの群に分け、ビタミン B₆ 含 70%カゼイン食の NiA 有りと無しの飼料を 19 日間摂取させた。

(表 1) 室内は温度を 22±2°C、湿度をおおよそ 60%に保ち、12 時間ごとの明暗で維持した。体重と飼料摂取量を午前 9 時から 10 時の間に定期的に測定した。実験の最後日には尿サンプル (24 時間; 午前 9 時～翌午前 9 時) を 1M HCl 1ml を入れた瓶に集め、必要になるまで -25°C で保存した。尿サンプルの採取後、ラットを断頭と殺した。各々の肝臓を取り出し、Trp からナイアシンの代謝に関係する酵素活性の測定のために文献 4,5) に説明されるようにその一部分 (おおよそ 1g) を処理した。

②実験 2 (ビタミン B₆ を含まない 70%カゼイン食の NiA の有無)

表 1 に示すようにビタミン B₆ のみを除いた飼料を用いた以外は実験 1 と同じ手順で実行した。

③実験 3 (ビタミン B₆ を含む 40%および 60%カゼイン食の NiA の有無)

飼料の内容以外は実験 1 と同じ手順で実

行した。実験 3 で使用した飼料組成は表 2 に示した。

4. 分析

Trp からナイアシンの転換率を測定するために, Nam とその代謝産物である MNA, 2-Py および 4-Py の尿中の含有量を測定した。この方法は成長期間の Nam の増加する体内蓄積量を考慮に入れていないし, その値は, 従って真の転換率を示さない。しかしながら, この値は見かけの転換率を評価するのに有用だ。転換率は尿中排泄量の合計 {Nam + MNA + 2-Py + 4-Py ($\mu\text{mol/day}$)} $\times 100$ /尿採取期間の Trp 摂取量 ($\mu\text{mol/day}$) として算出した。Nam, 2-Py および 4-Py の尿中の含有量は同時に柴田らの HPLC 法により測定し³⁾, また, MNA の尿中含量は柴田の HPLC 法により測定した。尿中の KA⁷⁾とキサンツレン酸 (XA)⁸⁾含有量は HPLC 法により測定した。

Trp oxygenase (EC 1.13.11.11)⁹⁾, kynureninase (EC 3.7.1.3:ピリドキサル 5'リン酸の添加なしのときの反応)⁷⁾, kynurenine aminotransferase (EC 2.6.1.7: ピリドキサル 5'リン酸の添加なしのときの反応)¹⁰⁾, 3-HA oxygenase (EC 1.13.1.1)⁹⁾, kynurenine 3-hydroxylase (EC 1.14.13.9: NADPH の添加ありのときの反応)¹¹⁾, ACMSDase (EC 4.1.1.45)¹²⁾, NMN adenylyltransferase (EC 6.3.5.1)¹³⁾, Nam methyltransferase (EC 2.1.1.1)¹⁴⁾, 2-Py-forming MNA oxidase (EC 1.2.3.1)¹⁴⁾ および 4-Py-forming MNA oxidase (EC number は未認定)¹²⁾は文献に説明されるように測定した。

C. 結果

1. 実験 1 (ビタミン B₆を含む 70%カゼイン食の NiA の有無)

表 3 に体重増加量, 飼料摂取量および食事効率における 70%カゼイン食の NiA の有無の影響を表した。飼料摂取量は 2 つの 2 つの群の間でほとんど同じであったが, 図 1 に示すように体重増加量は NiA 欠の飼料を摂取した群において有意に低かった。その結果, 食事効率は NiA 有りの群より無しの群の方が有意に低かった。すなわち, 70%カゼイン食では十分量の Trp を摂取した場合でもナイアシン自体の必要性を観察した。

KA と XA の尿中排泄量は飼料 1g 当たり nmol で表 4 に示した。KA と XA の尿中排泄量は 2 つの群の間でほとんど同じだった。飼料 1g 当たりの Nam, MNA, 2-Py, 4-Py および Nam + MNA + 2-Py + 4-Py の合計の尿中排泄量もそれぞれ表 4 に示した。NiA 有りの群のこれらの値が NiA 無しの群より高いのは食事性の NiA によるものと考えられた。転換率は NiA 有りの飼料を摂取した群では計算できなかったが, NiA 無しの飼料を摂取した群においては尿採取の期間中に摂取した Trp と尿中排泄量の合計を比較することによって計算することができた。その数値は表 4 に示すように $0.32 \pm 0.03\%$ (平均 $\pm$ SEM, n=5) であった。

次の手段として Trp からナイアシンへの酵素活性における 70%カゼイン食の NiA の有りと無しの影響を調査した。表 5 に示すように, 2 つの群の間の酵素活性に何の違いも見られなかった。

2. 実験 2 (ビタミン B₆を含まない 70%カゼイン食の NiA の有無)

表 6 は体重増加量, 飼料摂取量および食事効率におけるビタミン B₆欠 70%カゼイン

食の NiA 有りと無しの影響を示す。図 2 に示すように、飼料摂取量は NiA 有りの群より NiA 無しの群の方が有意に低く、体重増加量は NiA 欠の飼料を摂取した群において非常に低かった。その結果、食事効率は NiA 群より NiA 欠群において有意に低かった。すなわち、ビタミン B₆ 無しで 70%カゼイン食においてナイアシン自体の必要性が確かめられた。

飼料 1g 当たりの nmol で換算した KA と XA の尿中排泄量は表 7 に示した。KA と XA の尿中排泄量は 2 つの群の間でほとんど同じであった。しかし、XA の尿中排泄量は実験 1 より実験 2 の方がより高かった(表 4, 7)。XA の異常な増加は、ラットがビタミン B₆ 欠乏状態にあったということを意味する。飼料 1g 当たりの Nam, MNA, 2-Py, 4-Py および Nam+MNA+2-Py+4-Py の合計の尿中排泄量も表 7 にそれぞれ示した。NiA 有りの群のこれらの値が NiA 無しの群より高いのは食事性の NiA によるものと考えられた。転換率は NiA 有りの飼料を摂取した群では計算できなかったが、NiA 無しの飼料を摂取した群においては尿採取の期間中に摂取した Trp と尿中排泄量の合計を比較することによって計算することができた。その数値は表 7 に示すように $0.39 \pm 0.05\%$ であった。

次の手段として Trp からナイアシンへの酵素活性における 70%カゼイン食の NiA の有りと無しの影響を調査した。表 8 に示したように 2 つの群の間では 2-Py-forming MNA oxidase と 4-Py-forming MNA oxidase 以外の酵素活性には違いは見られなかった。

3. 実験 3 (ビタミン B₆ を含む 40%および 60%カゼイン食の NiA の有無)

NiA 有りと無しの 20%¹⁾, 40%および 60%のカゼイン食を摂取したラットの体重増加量、飼料摂取量および食事効率は表 9 に示した。これらの値は全ての群の間において飼料のタンパク質レベルと Trp の摂取に関係なくほとんど同じであった。

表 10 には NiA 有りと無しの 20%¹⁾, 40%および 60%カゼイン食群における Trp-ナイアシンの代謝産物の尿中排泄量を示した。飼料 1g 当たりの nmol で換算した KA と XA の尿中排泄量はビタミン B₆ の有無にかかわらず飼料のタンパク質摂取に従って増加した。それぞれのタンパク質レベル間の NiA 無しの群よりも NiA 有りの群の Nam, MNA, 2-Py および 4-Py のより高い値は食事性のナイアシンによるものと考えられた。転換率は NiA 有りの飼料を摂取した群では計算できなかったが、NiA 無しの飼料を摂取した群においては尿採取の期間中に摂取した Trp と尿中排泄量の合計を比較することによって計算することができた。その値は 20%カゼイン食で $1.90 \pm 0.25\%$ ¹⁾, 40%カゼイン食で $1.13 \pm 0.07\%$, 60%カゼイン食で $0.60 \pm 0.08\%$ であった。

表 11 は肝臓中の ACMSDase 活性を示す。その活性はビタミン B₆ の有無にかかわらず同じタンパク質レベルの間では違いはなかったが、活性は食事性タンパク質レベルに従って増加した。

D. 考察

真田¹⁵⁾と我々のグループ^{5, 16)}は食事のタンパク質レベルに従って ACMSDase 活性が増加すると報告してきた。我々は Trp からナイアシンの転換率が食事のタンパク質レベルに従って減少することも発見した^{5, 16)}。

従って、我々は ACMSDase が過度のナイアシン供給を切り替えてナイアシン生成を調節すると考えた。しかしながら、現在の実験結果から、我々は ACMSDase がナイアシン生成を調節するという Trp とナイアシンの関係の考え方は正しくないということを学んだ。

既に報告されていることでは、我々は NiA を含んでいる飼料を摂取させたラットと NiA のみを含んでいない飼料を摂取させたラットとの体重増加量はまさに同じであった。すなわち、ラットが 20%カゼイン食を摂取した場合はナイアシンを必要としない。ビタミン B₆ は Trp-ナイアシンの代謝に特にキヌレニンの代謝において重要である¹⁷⁾。ビタミン B₆ 欠 20%カゼイン食群ではビタミン B₆ 含 20%カゼイン食群よりも若年ラットの体重増加量が有意に低かった¹⁾。ビタミン B₆ 欠群の体重増加量が低いのはビタミン B₆ 欠乏が原因であった¹⁾。事実、ビタミン B₆ 欠乏の指標となる¹⁸⁾XA の尿中排泄量はビタミン B₆ を含んでいる群よりもビタミン B₆ を含まない群の方が有意に高かった¹⁾。しかしながら、20%カゼイン食におけるナイアシンの必要性はビタミン B₆ 欠の飼料では観察されなかった¹⁾。

NiA 欠 70%カゼイン食を摂取したラットでは NiA 含 70%カゼイン食と比較して体重増加量に減少が見られた (図 1)。

NiA 欠 20%、40%および 60%カゼイン食を摂取した群では、尿中排泄量の合計が飼料 1g 当たり 200~250 nmol であったけれど (表 10) NiA 欠 70%カゼイン食群では飼料 1g 当たり約 130 nmol であった (表 4, 7)。これらの結果から NiA 欠 70%カゼイン食を摂取したラットがナイアシン欠乏であった

ことを指し示す。それで 70%カゼイン食を摂取したラットに NiA を添加すると成長促進が見られた。ナイアシンは食事性の Trp から供給されていると信じられているためこれらの発見は非常に奇妙である¹⁹⁾。20%カゼイン食の状態では Trp の約 2%がナイアシンに転換される¹⁾。それどころかラットが 70%カゼイン食を摂取した場合は転換率が非常に低く、約 0.3%であり (表 4)、従ってそのラットは通常の成長にナイアシンを必要とした。70%カゼイン食群での Trp の摂取は 20%カゼイン食と比較して 7/2 と増加しているが、転換率は 2/0.3 と減少した。従って、ナイアシンの絶対的生成は 20%カゼイン食ラットの約半分 ($7/2 \times 0.3/2 = 0.525$) であった。

転換率では 70%カゼイン食においてビタミン B₆ の有無は影響しなかった (表 4, 7) にもかかわらず 20%カゼイン食においてはビタミン B₆ の有無は著しく影響した¹⁾。70%カゼイン食の実験では、ビタミン B₆ 含飼料を摂取するよりも (表 4) ビタミン B₆ 欠飼料を摂取する方が (表 7) XA の尿中排泄量はより増加した。すなわち、実験 1 ではラットは 70%カゼイン食を摂取している時でさえビタミン B₆ 欠乏ではなかった。従って、70%カゼイン食でのナイアシンの必要性はビタミン B₆ の栄養状態とは関係がなかった。

KA の尿中排泄量は 4 群間でほとんど同じであった (表 4, 7)。KA と XA の生成は同じ酵素, kynurenine aminotransferase に触媒され、これは PLP 依存酵素である。この酵素活性はビタミン B₆ 含の飼料摂取群 (表 5) よりもビタミン B₆ 欠の飼料摂取群 (表 8) の方がより低かった。それにもかかわらず、

Trp から XA への流れは大いに増加した。(表 4, 7) XA のみを増加させた機構は次のように説明できる。ビタミン B₆ 欠乏食において kynurenine 3-hydroxylase 活性が増加したため、ビタミン B₆ 欠乏ラットでは通常のラットよりもより効率的に、キヌレニンが 3-ヒドロキシキヌレニンに転換され(表 5, 8), 従って、ビタミン B₆ 欠食において、3-ヒドロキシキヌレニンから 3-ヒドロキシアンスラニル酸への反応を触媒する kynureninase の活性が増加したために 3-ヒドロキシキヌレニンが蓄積する(表 5, 8)。実験 2 において 2 つのビタミン B₆ 欠食を摂取した群で蓄積した 3-ヒドロキシキヌレニンは、kynurenine aminotransferase により XA に転換された。尿中の KA が増加しなかった理由は kynurenine 3-hydroxylase が増加したからかもしれない。

実験 2 において 2 つのビタミン B₆ 欠食を摂取した群において Trp の横への流れが増加したが、Trp からナイアシンへの転換率はビタミン B₆ 有りと無しの飼料を摂取した群間では差がなかった(表 4, 7)。この現象は明らかにされていない。高タンパク食での転換率の減少は 20%カゼイン食に比べて ACMSDase 活性の増加が原因であった。(表 5, 8, 文献 1) なぜ高タンパク質食では ACMSDase 活性が増加するのかは疑問だ。高タンパク質食は低炭水化物食を意味するので、この条件下では、アミノ酸はタンパク質の生合成や他の生体因子ではなくエネルギー生成の経路に異化代謝されかねない。しかし、今実験では Trp からナイアシンへの転換率が α -amino- β -carboxymuconate- ϵ -semialdehyde から α -amino muconate- ϵ -semialdehyde の反応に左右されるというこ

とがはっきりと示された。この反応は ACMSDase により触媒され、次に α -amino- β -carboxymuconate- ϵ -semialdehyde はナイアシンにではなくアセチル CoA に異化代謝される。これに反して、 α -amino- β -carboxymuconate- ϵ -semialdehyde からキノリン酸への反応は非酵素的で、Trp からのキノリン酸生成は ACMSDase 活性によって左右される。ACMSDase の阻害剤を添加すると Trp からナイアシンへの転換率が非常に増加した²¹⁾。

結論として、我々はラットに 70%カゼイン食を摂取させた場合、最大の成長のためには食事性のナイアシンを必要とするが 20%, 40%あるいは 60%食の場合は必要としないことを見いだした。この現象はタンパク質摂取の量が原因で Trp-ナイアシン転換率を変化させると考えられる。従って、ナイアシン必要量やナイアシン状態を評価する場合にはタンパク質摂取量を考慮しなければならない。

E. 健康危機情報

特記する情報なし

F. 研究発表

1. 発表論文

Kimura N, Fukuwatari T, Sasaki R, Shibata K (2005) The necessity of niacin in rats fed on a high protein diet. *Biosci Biotechnol Biochem*, 69, 273-279.

2. 学会発表

日本農芸化学会 2004 年度(平成 16 年度) 関西支部大会(日本農芸化学会創立 80 周年 関西支部創立 70 周年記念大会) 一般講演発表

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許予定
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

H. 引用文献

- 1) Shibata K, Mushiage M, Kondo T, Hayakawa T, and Tsuge H. (1995) Effects of vitamin B₆ deficiency on the conversion ratio of tryptophan to niacin. *Biosci Biotechnol Biochem*, 59, 2060-2063.
- 2) Pullman M E, Colowick S P. (1954) Preparation of 2- and 6-pyridones of N¹-methylnicotinamide. *J Biol Chem*, 206, 121-127.
- 3) Shibata K, Kawada T, Iwai K. (1988) Simultaneous micro-determination of nicotinamide and its major metabolites, N¹-methyl-2-pyridone-5-carboxamide and N¹-methyl-4-pyridone-3-carboxamide, by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*, 424, 23-28.
- 4) Shibata K. (1987) The metabolism of niacin in each organ and the biological method for assessing the nutritional status of niacin in the rat. *Vitamins* (in Japanese), 61, 39-56.
- 5) Shibata K, Matsuo H. (1990) Effect of dietary tryptophan levels on the urinary excretion of nicotinamide and its metabolites in rats fed a niacin-free diet or a constant total protein level. *J Nutr*, 120, 1191-1197.
- 6) Shibata K. (1987) Ultramicro-determination of N¹-methylnicotinamide in urine by high-performance liquid chromatography. *Vitamins* (in Japanese), 61, 599-604.
- 7) Shibata K. (1988) Fluorimetric micro-determination of kynurenic acid, an endogenous blocker of neurotoxicity, by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*, 430, 376-380.
- 8) Shibata K, Onodera M. (1992) Simultaneous high-performance liquid chromatographic measurement of xanthurenic acid and 3-hydroxyanthranilic acid in urine. *Biosci Biotechnol Biochem*, 56, 974.
- 9) Shibata K. (1987) Tryptophan-niacin metabolism in alloxane diabetic rats and partial prevention of alloxane by nicotinamide. *Agric Biol Chem*, 51, 811-816.
- 10) Tobes M C, Mason M. (1975) L-Kynurenine aminotransferase and L- α -aminoadipate aminotransferase. I. Evidence for identity. *Biochem Biophys Res Commun*, 62, 390-397.
- 11) Shibata K, Toda S. (1994) Effects of thyroxine on the conversion ratio of tryptophan to nicotinamide in rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, 58, 1757-1762.
- 12) Ichiyama A, Nakamura S, Kawai H, Honjo, T, Nishizuka Y, Hayaishi O, Senoh T. (1965) Studies on the benzene ring of tryptophan in mammalian tissues. II. Enzymic formation of α -aminomuconic acid from 3-hydroxyanthranilic acid. *J Biol Chem*. 240, 740-749.
- 13) Shibata K, Murata K, Hayakawa T, Iwai K. (1985) Effect of dietary orotic acid on the levels of liver and blood NAD in rats. *J*

- Nutr Sci Vitaminol*. 31, 265-278.
- 14) Shibata K. (1990) The catabolism of nicotinamide in riboflavin-deficient rats. *Vitamins* (in Japanese), 64, 589-595.
 - 15) Sanada H, Takahashi T, Miyazaki M. (1985) Effects of dietary fat and protein on the activity of α - amino - β - carboxymuconate - ϵ - semialdehyde decarboxylase and the urinary excretion of niacin metabolites in rats. *J Nutr Sci Vitaminol*, 31, 327-337.
 - 16) Shibata K, Onodera M. (1992) Changes in the conversion rate of tryptophan-nicotinamide according to dietary fat and protein levels. *Biosci Biotechnol Biochem*, 56, 1104-1108.
 - 17) Yess N, Price J M, Brown R R, Swan P B, Linkswiler H. (1964) Vitamin B₆ depletion in man: urinary excretion of tryptophan metabolites. *J Nutr*, 84, 229-236.
 - 18) Yeh J K, Brown R R. (1977) Effects of vitamin B-6 deficiency and tryptophan loading on urinary excretion of tryptophan metabolites in mammals. *J Nutr*, 107, 261-271.
 - 19) "Dietary Reference Intakes: For Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B₆, Folate, Vitamin B₁₂, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline," (1998) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes and its Panel on Folate, Other B Vitamins, and Choline and Subcommittee on Upper Reference Levels of Nutrients, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academy Press, Washington, D.C., pp.123-149.
 - 20) Okada M, Shibuya M, Akazawa T. (1998) Dietary protein as a factor affecting vitamin B₆ requirements. *J Nutr Sci Vitaminol*, 44, 37-45.
 - 21) Shibata K, Fukuwatari T, Sugimoto E. (2001) Effects of dietary pyrazinamide, an antituberculosis agent, on the metabolism of tryptophan to niacin and of tryptophan to serotonin in rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, 65, 1339-1346.

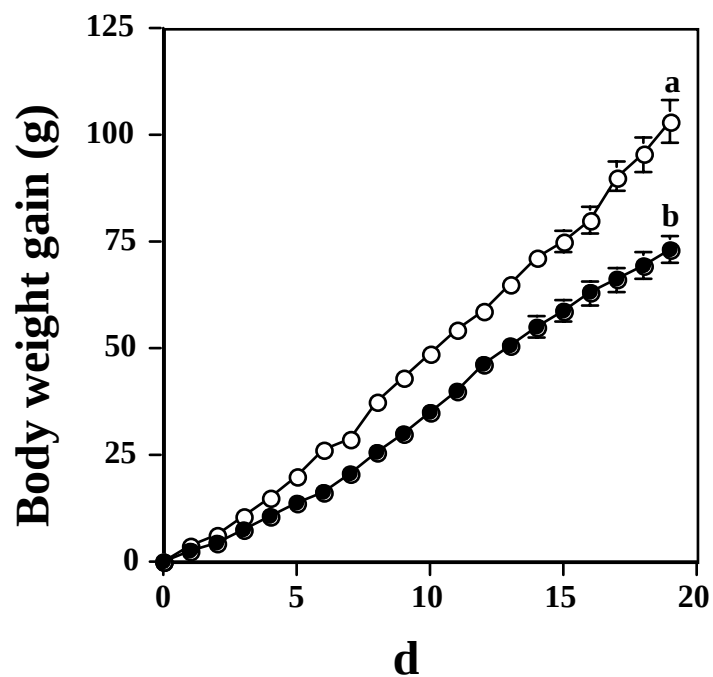


図 1. 70%カゼイン食摂取における NiA の有無の体重増加量の影響

○, +NiA & +B₆; ●, -NiA & +B₆. Each point represents the mean $\pm$ SEM for five rats. Values with different superscript letters are statistically significantly different at $p < 0.05$, as calculated by the Student-Newman-Keuls Multiple Comparisons test.

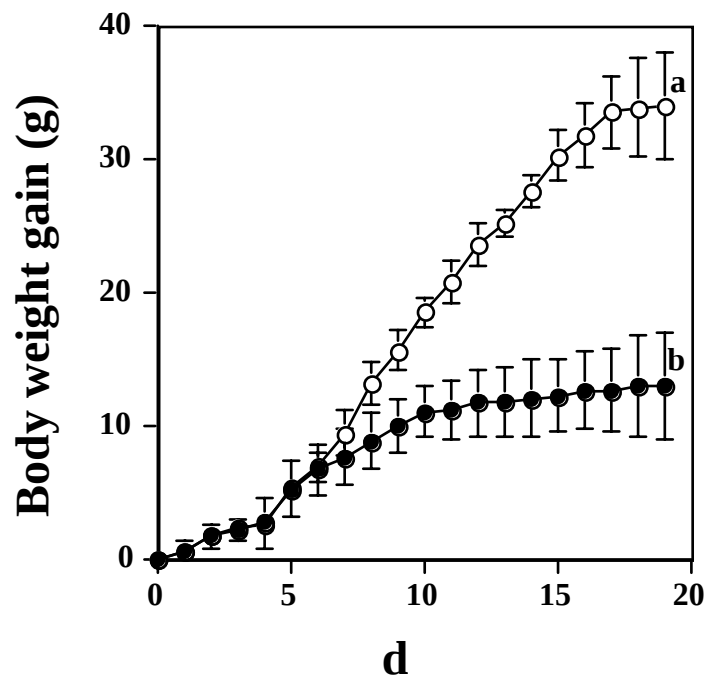


図 2. ビタミン B₆ 欠 70%カゼイン食摂取における体重増加量に対する NiA の有無の影響

○, +NiA & -B₆; ●, -NiA & -B₆. Each point represents the mean $\pm$ SEM for five rats. Values with different superscript letters are statistically significantly different at $p < 0.05$, as calculated by the Student-Newman-Keuls Multiple Comparisons test.

表 1. 70%カゼイン食の組成

	実験 1		実験 2	
	+ NiA & + B ₆	- NiA & + B ₆	+ NiA & - B ₆	- NiA & - B ₆
	%	%	%	%
Vitamin-free milk casein	70	70	70	70
L-Methionine	0.5	0.5	0.5	0.5
Sucrose	18.5	18.5	18.5	18.5
Corn oil	5	5	5	5
Mineral mixture*	5	5	5	5
Vitamin mixture*	1	0	0	0
NiA-free vitamin mixture*	0	1	0	0
B ₆ -free vitamin mixture*	0	0	1	0
NiA and B ₆ -free vitamin mixture*	0	0	0	1

* AIN 93 was used (Reeves, P.G., “ Components of the AIN-93 diets as improvements in AIN-76A diet.” *J. Nutr.*, 127, 838S-841S (1997)). The diet (+NiA & +B₆) contained 6 mg NiA and 0.8 mg of pyridoxine-HCl per 100 g of diet.

表 2. 40%と 60%カゼイン食の組成

	40% カゼイン食		60% カゼイン食	
	+NiA	-NiA	+NiA	-NiA
	%	%	%	%
Vitamin-free milk casein	40	40	60	60
L-Methionine	0.4	0.4	0.6	0.6
Sucrose	48.6	48.6	28.4	28.4
Corn oil	5	5	5	5
Mineral mixture*	5	5	5	5
Vitamin mixture*	1	0	1	0
NiA-free vitamin mixture	0	1	0	1

* AIN 93 was used (Reeves, P.G., “ Components of the AIN-93 diets as improvements in AIN-76A diet.” *J. Nutr.*, 127, 838S-841S (1997)). The diet (+NiA & +B₆) contained 6 mg NiA and 0.8 mg of pyridoxine-HCl per 100 g of diet.

表 3. ビタミン B₆ 含 70%カゼイン食群の体重増加量, 飼料摂取量および食事効率(実験 1)

	+NiA & +B ₆	-NiA & +B ₆
Initial body weight (g)	102 ± 2	105 ± 1
Final body weight (g)	205 ± 5	178 ± 4*
Body weight gain (g/19 days)	103 ± 5	73 ± 3*
Food intake (g/19 days)	231 ± 6	223 ± 3
FER ¹	0.45 ± 0.02	0.33 ± 0.01*

¹FER, Food Efficiency Ratio.

* Statistically significant difference at $p < 0.05$, compared with the +NiA group, as evaluated by Student's t test.

表 4. ビタミン B₆ 含 70%カゼイン食群の KA, XA, Nam およびその代謝産物の尿中排泄量, (2-Py + 4-Py)/MNA の排泄率および Trp からナイアシンの転換率 (実験 1)

	+NiA & +B ₆	-NiA & +B ₆
Food intake (g/day)	14.3 ± 0.3	15.0 ± 0.7
KA	198 ± 17	163 ± 15
XA	79 ± 5	62 ± 5
Nam	16 ± 1	3 ± 1*
MNA	87 ± 3	15 ± 3*
2-Py	80 ± 3	11 ± 2*
4-Py	331 ± 9	96 ± 5*
Sum ¹	514 ± 13	125 ± 10*
(2-Py+4-Py)/MNA	4.7 ± 0.3	7.1 ± 0.8
NiA intake	487 ± 0	0
Trp intake	38783 ± 0	38783 ± 0
Conversion ratio of Trp to Niacin (%)	Not calculated	0.32 ± 0.03

¹Sum, Nam + MNA + 2-Py + 4-Py.

Values are means ± SEM for five rats, expressed as nmol/ g of food, except for (2-Py + 4-Py)/MNA and the conversion ratio of Trp to niacin and means ± SEM for five rats.

* Statistically significant difference at $p < 0.05$, compared with the +NiA group, as evaluated by Student's *t* test.

表 5. ビタミン B₆ 含 70%カゼイン食群の Trp からナイアシンの代謝に関連する
酵素活性(実験 1)

	+NiA & +B ₆	-NiA & +B ₆
Trp oxygenase	2.03 ± 0.22	1.77 ± 0.22
Kynureninase	1.57 ± 0.05	1.55 ± 0.04
Kynurenine aminotransferase	1.14 ± 0.10	1.03 ± 0.02
Kynurenine 3-hydroxylase	1.54 ± 0.15	1.96 ± 0.40
3-HA oxygenase	551 ± 35	550 ± 22
ACMSDase	11.3 ± 1.4	12.1 ± 1.1
NMN adenylyltransferase	8.97 ± 0.71	8.31 ± 0.46
NAD ⁺ synthetase	0.59 ± 0.12	0.61 ± 0.04
Nam methyltransferase	1.85 ± 0.03	1.89 ± 0.04
2-Py-forming MNA oxidase	0.68 ± 0.07	0.71 ± 0.06
4-Py-forming MNA oxidase	1.70 ± 0.08	1.59 ± 0.03

Values are expressed as μmol/h/g of liver and means ± SEM for five rats.

表 6. ビタミン B₆ 欠 70%カゼイン食群の体重増加量, 飼料摂取量および食事効率(実験 2)

	+NiA & -B ₆	-NiA& -B ₆
Initial body weight (g)	106 ± 1	102 ± 2
Final body weight (g)	139 ± 5	115 ± 4*
Body weight gain (g/19 days)	33 ± 4	13 ± 4*
Food intake (g/19 days)	162 ± 2	141 ± 5*
FER ¹	0.20 ± 0.02	0.09 ± 0.01*

¹ FER, Food Efficiency Ratio.

Values are means ± SEM for five rats, expressed as μmol/h/g of liver and means ± SEM for five rats.

* Statistically significant difference at $p < 0.05$, compared with the +NiA group, as evaluated by Student's t test.

表 7. ビタミン B₆ 欠 70%カゼイン食群の KA, XA, Nam およびその代謝産物の尿中排泄量, (2-Py + 4-Py)/MNA の排泄率および Trp からナイアシンの転換率 (実験 2)

	+NiA & -B ₆	-NiA& -B ₆
Food intake (g/day)	7.4 ± 1.3	5.8 ± 1.1
KA	145 ± 5	144 ± 34
XA	1775 ± 173	2100 ± 234
Nam	16 ± 2	11 ± 4
MNA	295 ± 30	65 ± 11*
2-Py	23 ± 3	7 ± 1*
4-Py	137 ± 18	70 ± 6*
Sum ¹	471 ± 48	153 ± 14*
(2-Py+4-Py)/MNA	0.54 ± 0.04	1.2 ± 0.06*
NiA intake	487 ± 0	0
Trp intake	38783 ± 0	38783 ± 0
Conversion ratio of Trp to Niacin (%)	Not calculated	0.39 ± 0.05

¹Sum, Nam + MNA + 2-Py + 4-Py.

Values are means ± SEM for five rats, expressed as nmol/ g of food, except for (2-Py + 4-Py)/MNA and conversion ratio of Trp to niacin and means ± SEM for five rats.

* Statistically significant difference at $p < 0.05$, compared with the +NiA group, as evaluated by Student's t test.

表 8. ビタミン B₆ 欠 70%カゼイン食群の Trp からナイアシンの代謝に関連する酵素活性(実験 2)

	+NiA & -B ₆	-NiA& -B ₆
Trp oxygenase	1.82 ± 0.09	1.81 ± 0.14
Kynureninase	0.39 ± 0.09	0.32 ± 0.03
Kynurenine aminotransferase	0.38 ± 0.04	0.35 ± 0.04
Kynurenine 3-hydroxylase	3.07 ± 0.17	2.79 ± 0.18
3-HA oxygenase	511 ± 39	565 ± 43
ACMSDase	11.1 ± 1.6	12.6 ± 1.5
NMN adenylyltransferase	8.16 ± 0.27	8.75 ± 0.57
NAD ⁺ synthetase	0.56 ± 0.07	0.56 ± 0.06
Nam methyltransferase	1.79 ± 0.02	1.82 ± 0.03
2-Py-forming MNA oxidase	0.05 ± 0.02	0.10 ± 0.04
4-Py-forming MNA oxidase	0.18 ± 0.09	0.74 ± 0.10*

Values are expressed as μmol/h/g of liver and means ± SEM for five rats.

* Statistically significant difference at $p < 0.05$, compared with the +NiA group, as evaluated by Student's *t* test.

表 9. 20%, 40%および 60%カゼイン食群の体重増加量, 飼料摂取量および曲事効率 (実験 3)

	20% Casein diet ¹		40% Casein diet		60% Casein diet	
	+NiA	-NiA	+NiA	-NiA	+NiA	-NiA
Initial body weight (g)	103 ± 2	106 ± 2	102 ± 2	102 ± 2	102 ± 1	102 ± 1
Final body weight (g)	216 ± 4	216 ± 4	217 ± 5	223 ± 5	213 ± 4	212 ± 4
Body weight gain (g/19 d)	113 ± 4	110 ± 3	115 ± 4	121 ± 4	111 ± 3	110 ± 4
Food intake (g/19 d)	273 ± 5	287 ± 5	284 ± 5	294 ± 6	262 ± 6	260 ± 3
Food efficiency ratio*	0.41 ± 0.01	0.38 ± 0.01	0.40 ± 0.01	0.41 ± 0.01	0.42 ± 0.01	0.42 ± 0.02

*FER, body weight gain (g/19 d)/food intake (g/19 d).

Each value is the mean ± SEM for five rats.

¹Data were drawn from reference 1.

表 10. 20%, 40%および 60%カゼイン食群の KA, XA, Nam およびその代謝産物の尿中排泄量, (2-Py + 4-Py)/MNA の排泄率および Trp からナイアシンの転換率 (実験 3)

	20% Casein diet ¹		40% Casein diet		60% Casein diet	
	+NiA	-NiA	+NiA	-NiA	+NiA	-NiA
Food intake (g/day)	16.7 ± 0.6	18.0 ± 0.8	17.9 ± 0.6	18.5 ± 0.7	17.9 ± 0.6	16.5 ± 0.4
KA	35 ± 2.1	40 ± 5.6	105 ± 7.5	126 ± 20.5	156 ± 26.7	191 ± 8.7
XA	28 ± 2.5	36 ± 4.7	55 ± 6.4	51 ± 4.2	67 ± 7.8	81 ± 3.1
Nam	16 ± 0.8	13 ± 1.3	17 ± 1.4	9 ± 0.4	9 ± 1.4	7 ± 0.3
MNA	55 ± 1.1	18 ± 1.8*	57 ± 4.9	22 ± 2.2*	84 ± 8.1	24 ± 1.1*
2-Py	61 ± 2.4	16 ± 2.7*	55 ± 5.3	20 ± 1.9	66 ± 4.1	21 ± 0.9*
4-Py	484 ± 19	161 ± 21*	449 ± 53	199 ± 14*	257 ± 30	149 ± 19*
Sum ¹	616 ± 18	208 ± 27*	578 ± 57	250 ± 17*	416 ± 35	201 ± 20*
(2-Py + 4-Py)/MNA	9.9 ± 0.4	9.8 ± 0.5	8.8 ± 1.5	10.0 ± 1.1	3.8 ± 0.6	7.1 ± 0.7
NiA intake	487 ± 0	0	487 ± 0	0	487 ± 0	0
Trp intake	11081 ± 0	11081 ± 0	22162 ± 0	22162 ± 0	33242 ± 0	33242 ± 0
Conversion ratio of Trp to niacin (%)	Not calculated	1.90 ± 0.25	Not calculated	1.13 ± 0.07	Not calculated	0.60 ± 0.08

¹Sum, Nam + MNA + 2-Py + 4-Py.

Values are means ± SEM for five rats, expressed as nmol/ g of food, except for (2-Py + 4-Py)/MNA and conversion ratio of Trp to niacin and means ± SEM for five rats.

* Statistically significant difference at $p < 0.05$, compared with the respective the +NiA group, as evaluated by Student's t test.

¹Data were drawn from reference 1.

表 11. 20%, 40%および 60%カゼイン食群の ACMSDase 活性(実験 3)

	20% Casein diet ¹		40% Casein diet		60% Casein diet	
	+NiA	-NiA	+NiA	-NiA	+NiA	-NiA
ACMSDase ($\mu\text{mol/h/g}$ of liver)	2.4 ± 0.6	2.3 ± 0.6	3.81 ± 0.37	3.69 ± 0.57	8.85 ± 0.36	7.90 ± 1.16

¹Data were drawn from reference 1.